

THESIS

München

1968

9

ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG
DER HYALURONIDASEAKTIVITÄT DURCH
NOVOCAIN BEI SUBCUTANER INJEKTION UND
DURCH HUMINSÄUREN BEI
INTRAPERITONEALER APPLIKATION

LANE MEDICAL LIBRARY
STANFORD UNIVERSITY
MEDICAL CENTER
STANFORD, CALIF. 94305

HANS-HARALD STICKEL



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus der Medizinischen Poliklinik der Universität München

Direktor: Professor Dr. W. Seitz

ÜBER DIE BEEINFLUSSUNG DER HYALURONIDASE-
AKTIVITÄT DURCH NOVOCAIN BEI SUBCUTANER
INJEKTION UND DURCH HUMINSÄUREN BEI INTRA-
PERITONEALER APPLIKATION

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
verfaßt und einer Hohen Medizinischen Fakultät
der Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Hans-Harald Stickel
aus
Essen

München 1968

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität München

Referent: Privatdozent Dr.med. H. Mathies

Korreferent: Professor Dr. W. Seitz

Dekan: Prof. Dr. F. Marguth

Tag der mündlichen Prüfung: 15.10.68

Meinen Eltern in Dankbarkeit gewidmet

Inhaltsverzeichnis

	Seite
I) Einleitung	4
II) Problematik	6
III) Methodik	11
IV) Versuchsreihen	14
V) Tabellen und Abbildungen	16
VI) Diskussion	37
VII) Zusammenfassung	39
VIII) Literaturverzeichnis	40

Einleitung

JOACHIMOVITS (52) hat empirisch festgestellt, daß die therapeutische Wirkung von Moorbädern unter vorheriger subcutaner Novocain-Injektion stärker zu sein scheint als sie dem therapeutischen Effekt alleiniger Moorbadekuren entsprechen würde. Eine Erklärung hierfür kann vorerst nicht gegeben werden. JOACHIMOVITS regte deshalb entsprechende experimentelle Untersuchungen über eine Wirkungssteigerung des Mooreffektes durch Novocain an. Als Versuchsmodell wurde die Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität mittels des Hyaluronidase-Farbstoff-Spreading ausgewählt. Mit dieser Methode waren bereits mehrere antirheumatisch wirksame Substanzen, wie oben erwähnt, untersucht worden. Zunächst war zu untersuchen, ob Novocain selbst einen hyaluronidasehemmenden Effekt ausübt. Entsprechende Untersuchungen aus der Literatur waren noch nicht bekannt. Lediglich ERHARD (53) hat mit Novocain bei intravenöser Gabe eine merkliche hyaluronidasehemmende Wirkung im Tierversuch festgestellt. JOACHIMOVITS vertrat die Auffassung, daß subcutane Gaben, zumindest therapeutisch, einen stärkeren Effekt ausüben würden. Er deutet diesen Effekt im Sinne einer Umstimmung des vegetativen Nervensystems. Auch bei der Moorwirkung wird ein Effekt in der vagotonen Gegenregulationsphase angenommen. Vorstellungen über einen möglichen Wirkungsmechanismus der Lokalanaesthetica, in diesem Falle von Novocain, finden sich bei MÜLLER (21) und KUSCHINSKY (54): Eine Impulsleitung im Nerven kommt im Aktionspotential zum Ausdruck, das in der Nervenzellmembran entlangläuft. Dieser elektrischen Erregung liegt ebenso wie am Muskel eine Permeabilitätsänderung für Kationen zugrunde. Der Anstieg des Aktionspotentials, also die Depolarisation, entspricht einer starken, schlagartigen Zunahme der Natriumpermeabilität, die von einem Einstrom von Natrium-Ionen in die Zelle, entsprechend dem Gradienten, begleitet wird. Ein damit vergleichbarer Prozeß spielt sich wahrscheinlich bei der

Impulsbildung im sensiblen Endorgan ab.

Es wurde nachgewiesen, daß die Lokalanaesthetica in der Lipoidphase der Membranen gespeichert werden und dadurch eine Herabsetzung beziehungsweise Stabilisierung der Permeabilität der Membranen in der Umgebung der einzelnen Nervenfibrillen, der sogenannten Plasmamembran, bewirken. Sie erschweren also wahrscheinlich den Natriumeinstrom.

So kommt es bei Applikation dieser Substanzen nicht nur zur Lähmung von schmerzleitenden Fasern, sondern auch zur Lähmung der Gefäßkonstriktoren, das heißt zur peripheren Sympathicus-Blockade.

In der vorgelegten Arbeit sollte deshalb der Einfluß subcutaner Novocain-Injektion auf die Hyaluronidase-Aktivität untersucht werden. Dabei sollte vor allem die Dosisabhängigkeit eines eventuellen Effektes festgestellt werden, um Vergleiche zu den Verhältnissen anstellen zu können, wie sie bei intravenöser Gabe gefunden wurden.

Problematik

Es kann heute allgemein als gesichert gelten, daß der Rheumatismus als komplexes Krankheitsgeschehen betrachtet werden muß. Man kann bei Rheumatikern eine gesteigerte Hyaluronidase-Aktivität und als Folge davon eine erhöhte Permeabilität durch vermehrte Depolymerisation der Hyaluronsäuren nachweisen. MATHIES und Mitarbeiter haben diesen Sachverhalt ausführlich beschrieben (1,2, 3,4). Die Hemmung dieser Hyaluronidase-Aktivität soll nun nach Meinung vieler Autoren einen Teileffekt der antirheumatischen Wirkung darstellen, wobei man sich jedoch darüber einig ist, daß zwischen hyaluronidasehemmender Wirkung und antirheumatischem Effekt keine Identität besteht. Bei Betrachtung der Untersuchungen über hyaluronidasehemmende Substanzen ist festzustellen, daß nur ein Teil dieser Stoffe auch in vitro eine Wirkung zeigen. Die meisten hyaluronidasehemmenden Substanzen zeigen nur in vivo bei bestimmten Versuchsanordnungen eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität (5,6).

Bei diesen Untersuchungen ist zu beachten, daß mit den üblichen Auswertungsmethoden nur jeweils ein gewisser Sektor der komplexen biologischen Reaktion Rheumatismus erfaßt werden kann (7).

Im Tierversuch eine erhöhte Permeabilität von einer speziellen Hyaluronidasewirkung zu trennen, ist wegen des Fehlens geeigneter Bestimmungsmethoden recht schwierig, da einerseits die Permeabilität nicht allein von der depolymerisierenden Wirkung der Hyaluronidase abhängt, andererseits die Hyaluronidase auch andere Mucopolysaccharidsäuren abbaut. Außerdem stellen die Hyaluronidasen keine exact definierbaren Substanzen dar. Die Wirkungsweise einiger hyaluronidasehemmender Substanzen wurde von MATHIES und Mitarbeitern in einer Reihe von Arbeiten geklärt (8,9).

So ergaben Untersuchungen mit Moorbädern, deren wirksames Substrat Huminsäuren sind, und etlichen anderen Substanzen

bei bestimmten Versuchsbedingungen eine Hyaluronidasehemmung. Nach vorheriger Adrenalektomie blieb jedoch die Hyaluronidasehemmung aus, was beweist, daß die Nebenniere für das Zustandekommen einer Hyaluronidasehemmung durch Moor notwendig ist. Da der Ascorbinsäuregehalt der Nebennieren bei intakten Ratten nach Moorbädern abfällt, muß eine Aktivierung der Nebennierenrinde vorliegen, weil man allgemein die Ascorbinsäuredepletion als Ausdruck der inkretorischen Funktion der Nebennierenrinde ansieht (10, 11, 12, 13). Die Aktivierung der Rinde wird wahrscheinlich über die Hypophyse laufen, da der Depletionseffekt bei hypophysektomierten Ratten ausbleibt.

Bemerkenswert war jedoch, daß bei den hypophysektomierten Tieren, bei denen also die inkretorische Tätigkeit der Rinde fehlte, die hyaluronidasehemmende Wirkung der Moorbäder erhalten blieb. Daraus ist zu folgern, daß wohl die Nebennieren, nicht jedoch die inkretorische Funktion der Rinde für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung maßgebend sein konnte. Die Nebennierenrinde zeigt somit zwar eine Aktivität, die jedoch nur eine mitlaufende Reaktion darstellt und hinsichtlich der Hyaluronidasehemmung unwesentlich ist. Da aber die Nebenniere für die Hyaluronidasehemmung notwendig ist, mußte eine Nebennierenmark-Funktion für das Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung angenommen werden. Diese Annahme wurde bestätigt. MATHIES und Mitarbeiter (14, 15, 16, 17) konnten zeigen, daß die Substrate einer inkretorischen Nebennierenmark-Funktion, nämlich die Katecholamine Noradrenalin und Adrenalin, in Dosen zwischen 1 μ und 6 μ / 100 g Ratte eine Hyaluronidasehemmung sowohl bei intakten als auch bei adrenalektomierten Ratten hervorrufen. Da diese Hemmung auch bei adrenalektomierten Tieren in gleichem Maße auftrat, waren diese Ergebnisse eine Bestärkung in der Annahme einer Nebennierenmark-Katecholaminausschüttung beim Auftreten einer Hyaluronidasehemmung durch Moorbäder.

Der Anstieg des Katecholamingehaltes der Nebennieren während der Moorbäder wurde als erhöhte Katecholaminbildung

mit gleichzeitiger Bremsung der laufenden Normalausschüttung diskutiert (18,19). Nach EICHHOLTZ (20) ist die laufende Normalausschüttung an Adrenalin beim Menschen bekannt und beträgt 0,01 bis 0,02 μ /min./100 g Körpergewicht. Nach MÖLLER (21) beträgt bei den meisten Säugetieren der Noradrenalingehalt 25 - 35 % der Gesamtmenge der Katecholamine des Nebennierenmarkes; beim Menschen ist die Noradrenalinmenge niedriger, etwa 20 %.

Aus Arbeiten von REICHEL (22) wußte man schon länger, daß nach Moorbädern der Adrenalin Spiegel des Blutes ansteigt. Die Bedeutung der Katecholaminausschüttung für die Hyaluronidasehemmung wurde jedoch nicht erkannt. Außerdem konnten MATHIES und Mitarbeiter (23,18,24) zeigen, daß die Hyaluronidasehemmung durch Adrenalin und Noradrenalin nicht unter Einwirkung der Substanz selbst, sondern nach Abklingen der Adrenalinwirkung in der Gegenregulation auftritt. Dies wurde festgestellt durch Prüfung der Pupillenreaktion nach Adrenalingabe. Der hyaluronidasehemmende Effekt trat erst zu einem Zeitpunkt auf, wenn die primäre Wirkung der Medikamente, an der Pupillenweite (deutliche Erweiterung nach 6 μ Adrenalin/100 g Tier) gemessen, bereits abgeklungen war (25,26,27,28,29,30,31). Auch in der Bädertherapie tritt der therapeutische Effekt mit der vagischen Gegenregulation auf die primäre sympathikotone Phase ein, wie durch zahlreiche Untersuchungen festgestellt wurde; somit ergänzen die von MATHIES und Mitarbeitern (32, 33,34,35,36,37) erhobenen Befunde die bisher bekannten. Zur weiteren Sicherung der Befunde, daß Adrenalin und Noradrenalin auch bei adrenaletomierten Tieren eine Hyaluronidasehemmung erzielen lassen, wurde von MATHIES und Mitarbeitern untersucht, ob Ergotamintartrat und Regitin als Adrenolytica in der Lage sind, die hyaluronidasehemmende Wirkung der Katecholamine aufzuheben. Die Untersuchungen ergaben, daß sowohl die hyaluronidasehemmende Wirkung von Adrenalin als auch von Noradrenalin blockiert wurde (38,39,40).

In einer anderen Arbeit (41) konnten MATHIES und Mitarbeiter zeigen, daß auch Pendiomid als Ganglienblocker, der

nach EICHHOLTZ (20) das Nebennierenmark blockiert, den hemmenden Einfluß eines Moorbades auf das Hyaluronidase-spreading blockiert. Ein peripher gelegener Angriffspunkt des Ganglienblockers in diesem Wirkungsablauf scheidet aus, da Pendiomid auf die hyaluronidasehemmende Wirkung des Adrenalins keinen Einfluß ausübt.

Im übrigen wurde nach einem Faktor gesucht, der am Ende einer durch die Katecholaminausschüttung in Gang gesetzten Reaktionsfolge letztlich die Hyaluronidasehemmung bedingt. Bei Untersuchungen mit Heparin fanden MATHIES und Mitarbeiter (42,43,44,45), daß sowohl bei intakten als auch bei adrenalektomierten Ratten eine Hyaluronidasehemmung auftritt. Nach vorheriger Protaminsulfatinjektion, welches Heparin inaktiviert, bleibt die Hemmung aus. Auch die hyaluronidasehemmende Wirkung der Moorbäder verschwindet, wenn vor dem Bad Protaminsulfat injiziert wird. Eine Mitwirkung des Heparins beim Zustandekommen der Hyaluronidasehemmung auf dem Wege über eine Katecholaminausschüttung des Nebennierenmarkes gewinnt durch diese Ergebnisse an Wahrscheinlichkeit.

Auf Grund all dieser Untersuchungen scheint es möglich, daß eine antirheumatische Wirkung über eine Aktivierung des Nebennierenmarkes ausgelöst werden kann. Einige Autoren haben deshalb die Möglichkeit diskutiert, ob nicht beim Rheumatiker grundsätzlich eine funktionelle Nebennierenmarksschwäche mit einer ungenügenden Adrenalinausschüttung besteht. ARSOV (46) und SCHMIDT (47) empfehlen zum Beispiel bei Rheumatikern eine Gabe von Mikrodosen Adrenalin intravenös über 3 - 6 Monate. AXELROD (48) fand bei Rheumatikern eine verminderte Adrenalinausscheidung im Urin. Interessanterweise stellte CREMERIUS (49) bei Untersuchungen von 160 Polyarthritikern in allen Lebensaltern und beiderlei Geschlechts einen vergleichsweise zur Durchschnittsbevölkerung niedrigen Blutdruck fest, wobei besonders der diastolische Wert auffallende Konstanz in vielen Lebensaltern zeigt. Ähnliche Ergebnisse konnten andere Autoren vorweisen (50,51).

Auch andere akute muskel-, gelenk- und nervenrheumatische Zustände zeigten als übereinstimmenden Symptom Hypotonie. Weiterhin ist aus den Untersuchungen zu ersehen, daß ein Absinken des Katecholaminblutspiegels, sowohl nach vorheriger Erhöhung durch Freisetzung aus dem Nebennierenmark oder durch experimentelle Zufuhr als auch durch Erniedrigung des Normalniveaus, sowie ferner eine periphere Sympathicus-Blockade eine Hyaluronidasehemmung verursachen.

Methodik

Als Kriterium für die Hyaluronidasehemmung wurde die Hemmung der durch Hyaluronidase vermehrten Diffusionsgeschwindigkeit einer subcutan gesetzten Farbstoffquaddel gewählt. Zu den Versuchen wurden nur männliche Ratten mit einem durchschnittlichen Gewicht von 180 - 250 g verwendet, da die Enthaarung ihrer glatten Bauchhaut ohne Gefahr einer Epidermisläsion möglich war. Vorversuche von SCHMIDT (29) zeigten, daß sonst keine Unterschiede im Verhalten zwischen männlichen und weiblichen Ratten bestehen. Die Bauchhaut der Tiere wurde mit Pilca enthaart. Um die Diffusion der Farbstoff- beziehungsweise Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln nicht durch exogene Faktoren, das heißt Spannungsänderungen der Haut, Muskelkontraktionen und so weiter, nicht zu verfälschen, wurden die Tiere mit Evipan narkotisiert (1,4 - 1,6 ml einer Lösung von 0,5 g Evipan auf 10 ml Aqua bidest.). Nach WILHELM (55) beeinflussen Barbiturate die Hyaluronidasehemmung nicht. Unmittelbar vor und zu verschiedenen Zeiten (30 Min., 60 Min., 90 Min., 120 Min.) nach Applikation der zu untersuchenden Substanzen wurde mit einer dünnen Kanüle je eine Farbstoff (F-) und eine Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel (FH-) streng intracutan in die Bauchhaut gesetzt. Die Farbstoffquaddel wurde mit 0,1 ml einer 0,06 %igen Evansblaulösung gesetzt, die Farbstoff-Hyaluronidase-quaddel mit der gleichen Menge 0,06 %iger Farbstofflösung, in der jeweils 7,5 I.E. hochgereinigter Testeshyaluronidase gelöst waren (2 ml Evansblau-Lösung auf 150 I.E. Kinetin-Schering).

Nach GIBIAN (56) ist die Diffusion einer intracutan gesetzten Quaddel von dem Druck abhängig, der ihr von der Umgebung entgegengesetzt wird. Wenn jetzt der Gewebswiderstand durch Hyaluronidaseeinwirkung vermindert wird, wirkt sich das begünstigend auf die Ausbreitung der Quaddel aus. Die Ausbreitung der Quaddeln erfolgt nach MADINAVEITIA (57) in zwei Phasen, wobei nur innerhalb der ersten 10 Minuten ein sicherer hyaluronidasehemmender Effekt vorliegt, während daran

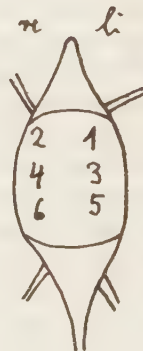
anschließend resorptive Prozesse überwiegen.

Es wurde deshalb jeweils 10 Minuten nach dem Setzen der Quaddeln mit einem Filzschreiber die äußerste Begrenzung der Farbstoffflecken gekennzeichnet, anschließend auf eine Zelluloidplatte (am besten auf einen abgewaschenen Röntgenfilm) übertragen und planimetrisch ausgemessen. Die hyaluronidasehemmende Wirkung der untersuchten Substanzen äußert sich in einer Verringerung der Farbstoffausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Lösung gegenüber dem Ausgangswert. Diese Differenz in mm^2 ist bei den einzeln beschriebenen Versuchsreihen angegeben und diente zur Grundlage der Auswertungen und der graphischen Darstellungen. Die Beobachtung der Farbstoffausbreitung der reinen Farbstoffquaddel ohne Hyaluronidasebeigabe unter Einwirkung der untersuchten Substanzen wurde in allen Untersuchungen vergleichsweise durchgeführt. Etwaige signifikante Differenzen geben einen Hinweis auf einen möglichen Einfluß der Versuchssubstanzen auf die gewebeeigene Hyaluronidase oder auf eine hyaluronidaseunabhängige permeabilitätshemmende Wirkung der zu den Untersuchungen herangezogenen Stoffe. Die für einen Versuch benutzten Mooraufschwemmungen konnten nicht direkt appliziert werden, sondern mußten erst folgendermaßen aufbereitet werden: die in physiologischer Kochsalzlösung nicht löslichen kristallinen Huminsäuren wurden in Tyloeschleim suspendiert. Von der zuerst im Mörser pulverisierten Menge wurden 10 mg abgewogen und mit 100 ml Tyloeschleim versetzt. Im Wasserbad wurde dann kurz bis auf 70 Grad Celsius erhitzt. Diese Suspension diente als Stammlösung; von ihr wurde die entsprechende Verdünnung hergestellt, und zwar 1 : 10, das sind 0,001 mg der Huminsäuren. In früheren Versuchen (58) wurde nachgewiesen, daß der Tyloeschleim keine isolierten Wirkungen auf die Hyaluronidase-Aktivität besitzt.

Um Fehler in der Ausbreitung der Quaddeln auf der Bauchhaut der verschiedenen Ratten auszugleichen, wurde die Lokalisation der Quaddeln systematisch nach der Vorschrift des folgenden lateinischen Quadrats geändert.

	I	II	III	IV	V	VI
1	FH ₆₀	F ₃₀	F ₆₀	F _V	FH _V	FH ₃₀
2	F ₃₀	F ₆₀	F _V	FH _V	FH ₃₀	FH ₆₀
3	F ₆₀	F _V	FH _V	FH ₃₀	FH ₆₀	F ₃₀
4	F _V	FH _V	FH ₃₀	FH ₆₀	F ₃₀	F ₆₀
5	FH _V	FH ₃₀	FH ₆₀	F ₃₀	F ₆₀	F _V
6	FH ₃₀	FH ₆₀	F ₃₀	F ₆₀	F _V	FH _V

Im obigen lateinischen Quadrat sind der Zeit 30 die Zeit 90, ebenso der Zeit 60 die Zeit 120 Minuten gleichzusetzen. I - VI bezeichnet die Nummer des Versuchstieres, 1 - 6 die Lokalisation auf dem Rattenbauch.



Lokalisation auf dem Rattenbauch

Versuchsreihen

Versuchsreihe 1:

Es wurde die hyaluronidasehemmende Wirkung eines Huminsäuregemisches in der Konzentration von 1 : 10 (0,001 mg Huminsäuren pro 0,1 ml; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,211 kg 0,0047 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht) untersucht. Nach oben beschriebener Methode wurde die Hemmung bestimmt und zwar 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Applikation des Huminsäuregemisches (0,1 ml intraperitoneal).

Die Ergebnisse finden sich in den Tabellen 1 und 2 und in Abbildung 1, 2 und 11.

Versuchsreihe 2:

Es wurde geprüft, ob eine 1 %ige Novocain-Lösung eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität bewirkt. 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Applikation des Novocains (je 0,3 ml bilateral parasternal, also 6 mg Novocainsubcutan; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,190 kg 31,6 mg Novocain pro kg Tiergewicht) wurde die Hemmung bestimmt. Die Ergebnisse finden sich in den Tabellen 3 und 4 und in Abbildung 3, 4 und 12.

Versuchsreihe 3:

In dieser Versuchsreihe sollte festgestellt werden, ob bei einer 0,1 %igen Novocain-Lösung eine Hyaluronidase-Hemmung auftritt. 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Applikation des Novocains (je 0,3 ml bilateral parasternal, also 0,6 mg Novocain subcutan; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,215 kg 2,79 mg Novocain pro kg Tiergewicht) wurde die Hemmung bestimmt.

Die Ergebnisse finden sich in den Tabellen 5 und 6 und in Abbildung 5, 6 und 13.

Versuchsreihe 4:

Diese Versuchsreihe diente dazu, das Vorliegen einer hyaluronidasehemmenden Wirkung einer 0,05 %igen Novocain-Lösung festzustellen. 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Applikation des Novocains (je 0,3 ml bilateral parasternal, also 0,3 mg Novocain subcutan; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,295 kg 1,01 mg Novocain pro kg Tiergewicht) wurde die Hemmung bestimmt. Die Ergebnisse finden sich in den Tabellen 7 und 8 und in Abbildung 7, 8 und 14.

Versuchsreihe 5:

Ob bei der Applikation einer 0,025 %igen Novocain-Lösung eine Hyaluronidasehemmung auftritt, sollte in dieser Versuchsreihe geprüft werden. 30, 60, 90 und 120 Minuten nach Applikation (je 0,3 ml bilateral parasternal, also 0,15 mg Novocain subcutan; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,319 kg 0,47 mg Novocain pro kg Tiergewicht) wurde die Hemmung bestimmt.

Die Ergebnisse finden sich in den Tabellen 9 und 10 und in Abbildung 9, 10 und 15.

Tabellen

Tabelle 1

Tier	Gew.	F _V	F ₃₀	F ₆₀	FH _V	FH ₃₀	FH ₆₀
I	215g	124	122	120	216	156	164
II	235g	130	125	129	224	169	160
III	210g	132	119	119	225	164	170
IV	205g	122	123	124	212	158	168
V	185g	120	118	123	196	156	156
VI	200g	140	120	121	214	165	170
MW		128	121	123	215	161	165
D			-7	-5		-54	-50

MW = Mittelwerte der Einzelwerte

D = Differenz zum Ausgangswert der Mittelwerte (F_V, FH_V)

Tabelle 2

Tier	Gew.	F _V	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _V	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	210g	138	130	124	230	162	164
II	220g	134	127	128	225	167	174
III	220g	124	120	120	230	164	156
IV	225g	132	126	124	232	165	160
V	215	127	124	122	224	172	172
VI	195	120	122	119	208	168	174
MW		129	125	123	225	166	167
D			-4	-6		-59	-58

Tabelle 3

Tier	Gew.	F _V	F ₃₀	F ₆₀	FH _V	FH ₃₀	FH ₆₀
I	200	128	128	124	228	168	172
II	205	1321	126	124	224	180	160
III	195	120	124	124	220	172	168
IV	215	128	128	132	216	176	160
V	205	124	120	120	216	164	160
VI	195	128	124	120	204	172	164
MW		126	125	126	218	172	166
D			-1	0		-46	-52

Tabelle 4

Tier	Gew.	F _V	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _V	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	180	132	128	134	236	164	160
II	170	126	126	124	220	164	160
III	175	136	128	138	228	172	160
IV	185	124	120	128	216	156	170
V	190	124	128	120	210	152	160
VI	175	132	124	120	224	194	156
MW		129	126	127	222	167	161
D			-3	-2		-55	-61

Tabelle 5

Tier	Gew.	F_V	F_{30}	F_{60}	FH_V	FH_{30}	FH_{60}
I	235	140	136	140	228	164	180
II	160	140	140	132	220	168	156
III	255	132	128	136	260	196	188
IV	185	124	136	120	204	176	184
V	225	120	120	128	216	184	180
VI	240	128	120	124	200	196	192
MW		131	130	130	221	181	180
D			-1	-1		-40	-41

Tabelle 6

Tier	Gew.	F_V	F_{90}	F_{120}	FH_V	FH_{90}	FH_{120}
I	205	144	136	140	236	192	184
II	215	124	124	120	236	184	172
III	225	152	144	140	240	204	208
IV	205	140	136	136	236	180	176
V	215	132	128	128	240	184	172
VI	215	148	144	144	236	184	180
MW		140	135	135	237	188	182
D			-5	-5		-49	-55

Tabelle 7

Tier	Gew.	F _V	F ₃₀	F ₆₀	FH _V	FH ₃₀	FH ₆₀
I	300	120	120	124	196	180	188
II	285	116	116	120	196	212	196
III	310	120	116	144	172	172	180
IV	285	140	120	124	208	192	184
V	285	136	136	144	200	168	204
VI	280	120	120	116	160	168	156
MW		125	121	129	187	182	185
D			-4	+4		-5	-2

Tabelle 8

Tier	Gew.	F _V	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _V	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	290	128	136	136	220	176	188
II	305	156	156	140	232	216	176
III	295	136	136	140	224	200	200
IV	295	152	152	152	212	200	184
V	310	148	156	152	240	168	216
VI	300	132	120	128	216	180	172
MW		142	143	141	224	190	189
D			+1	-1		-34	-35

Tabelle 9

Tier	Gew.	F _V	F ₃₀	F ₆₀	FH _V	FH ₃₀	FH ₆₀
I	320	128	152	152	204	192	208
II	310	152	148	132	228	204	204
III	325	136	124	136	212	216	196
IV	310	144	136	136	208	232	210
V	325	124	120	122	220	202	204
VI	300	128	144	128	224	232	228
MW		135	137	134	216	213	208
D			+2	-1		-3	-8

Tabelle 10

Tier	Gew.	F _V	F ₉₀	F ₁₂₀	FH _V	FH ₉₀	FH ₁₂₀
I	320	124	128	120	224	192	196
II	320	144	148	132	216	212	204
III	345	142	138	140	228	232	220
IV	280	140	148	128	232	220	232
V	320	144	140	142	212	208	216
VI	360	128	128	120	220	228	216
MW		137	138	130	222	215	214
D			+1	-7		-7	-8

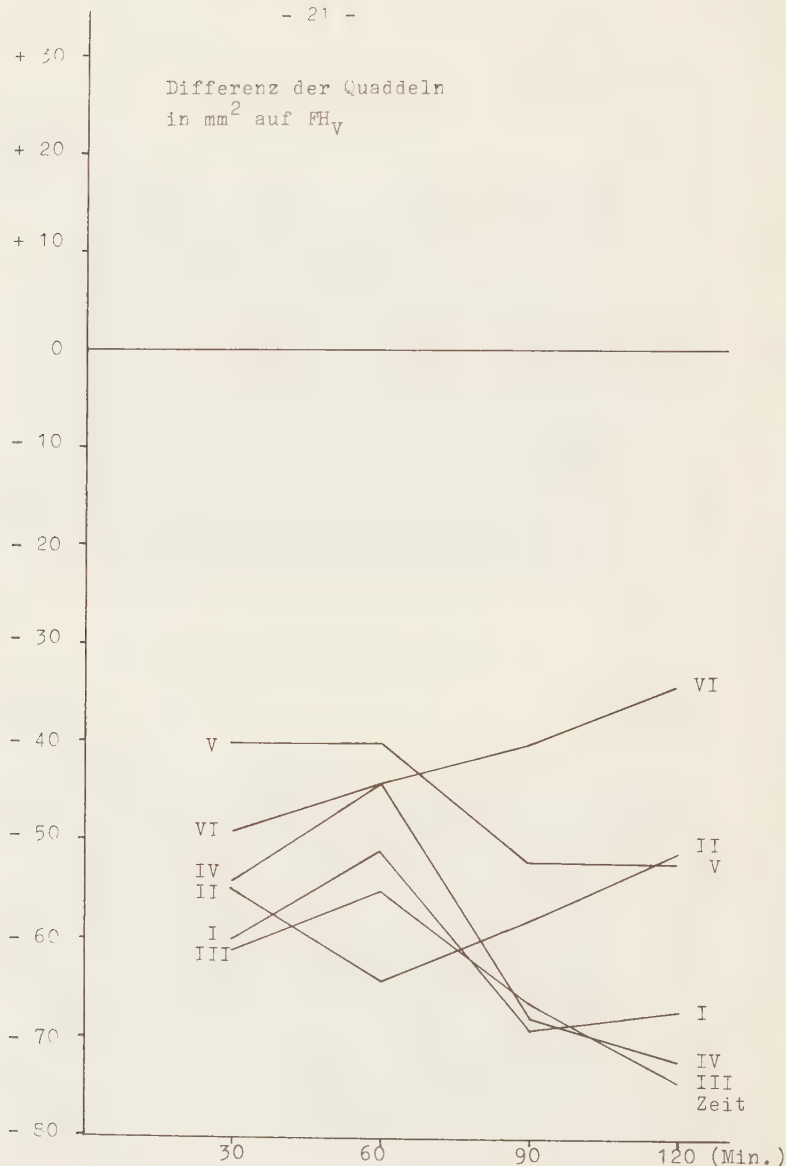


Abbildung 1: Es wurden 0,1 ml eines Huminsäuregemisches in der Konzentration von 1:10 intraperitoneal appliziert; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,211 kg 0,0047 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V).

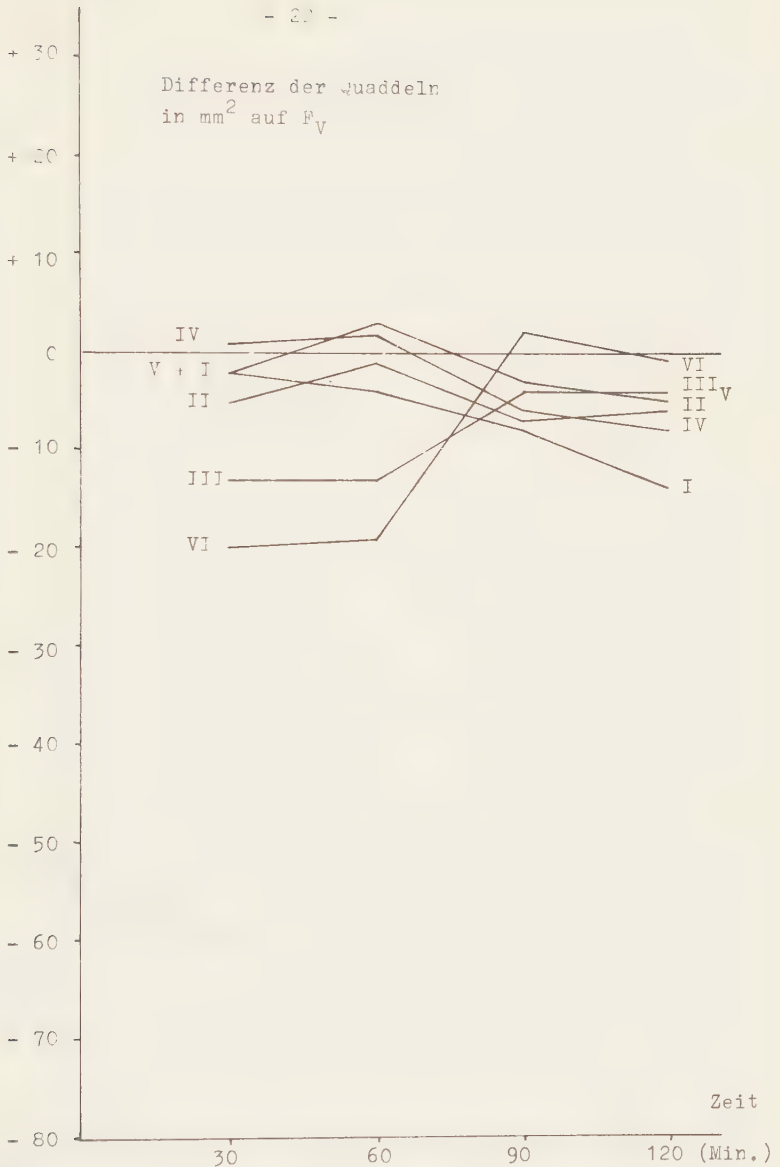


Abbildung 2: Gleichzeitig mit dem in Abbildung 1 dargestellten Versuch wurden bei derselben Ratte zur Kontrolle reine Farbstoff-Quaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_V).

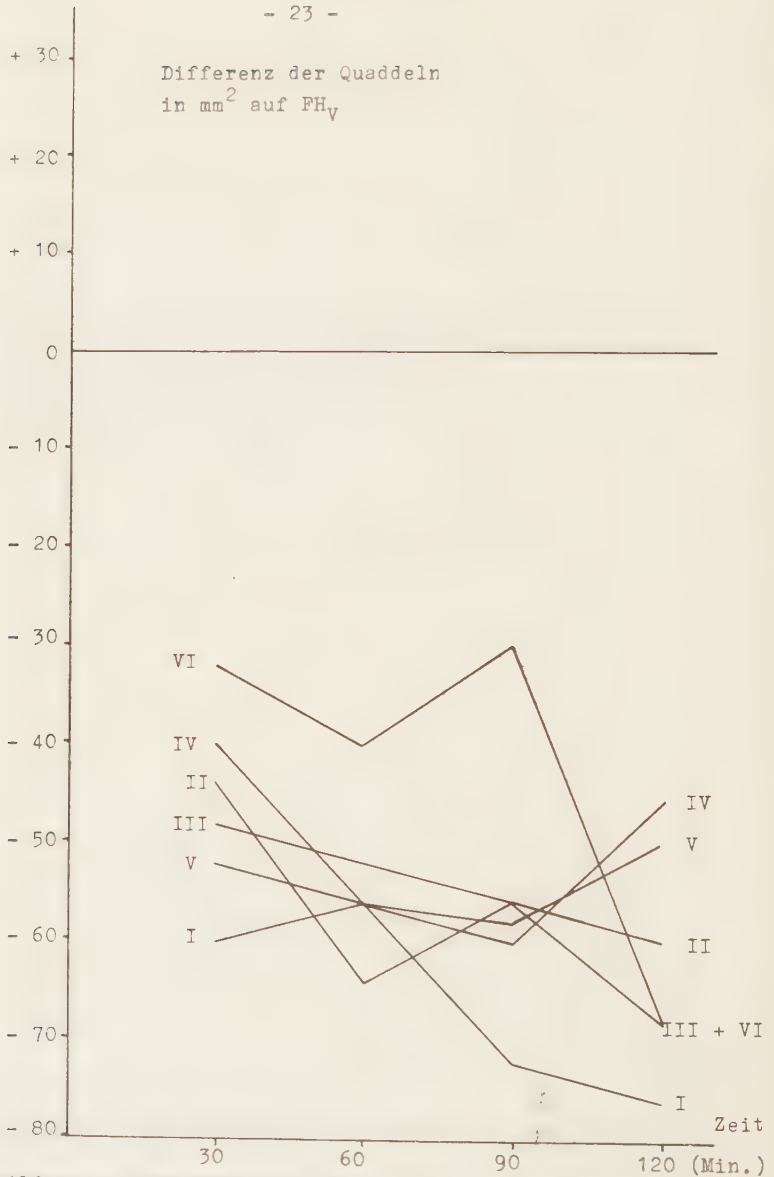


Abbildung 3: Es wurden 6 mg Novocain subcutan injiziert, das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,190 kg 31,6 mg Novocain pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V).

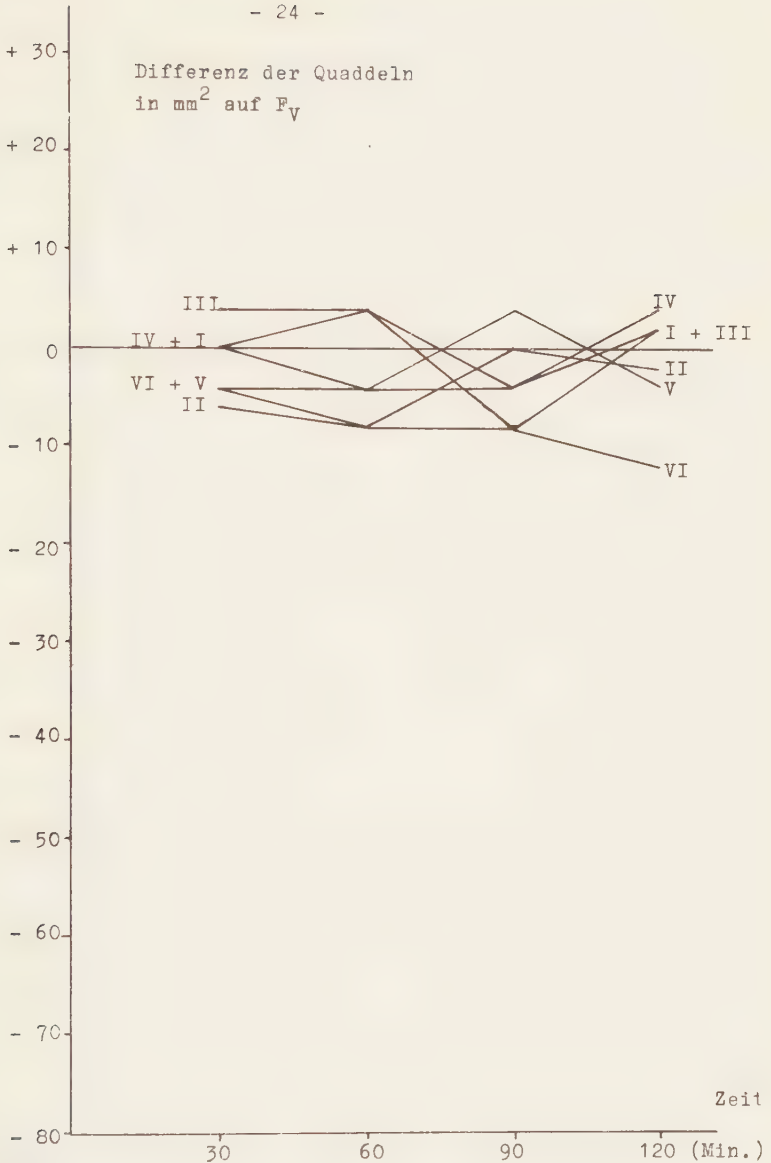


Abbildung 4: Gleichzeitig mit dem in Abbildung 3 dargestellten Versuch wurden bei derselben Ratte zur Kontrolle reine Farbstoff-Quaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_V).

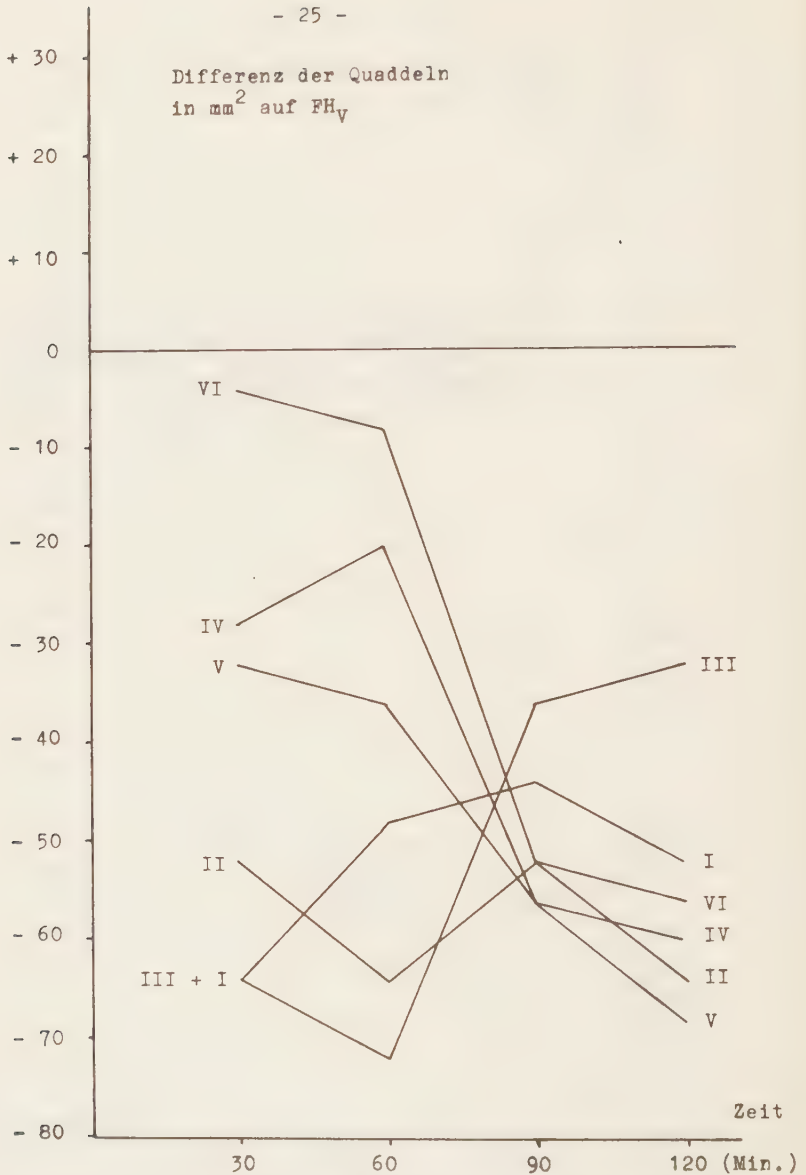


Abbildung 5: Es wurden 0,6 mg Novocain subcutan injiziert; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,215 kg 2,79 mg Novocain pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V).

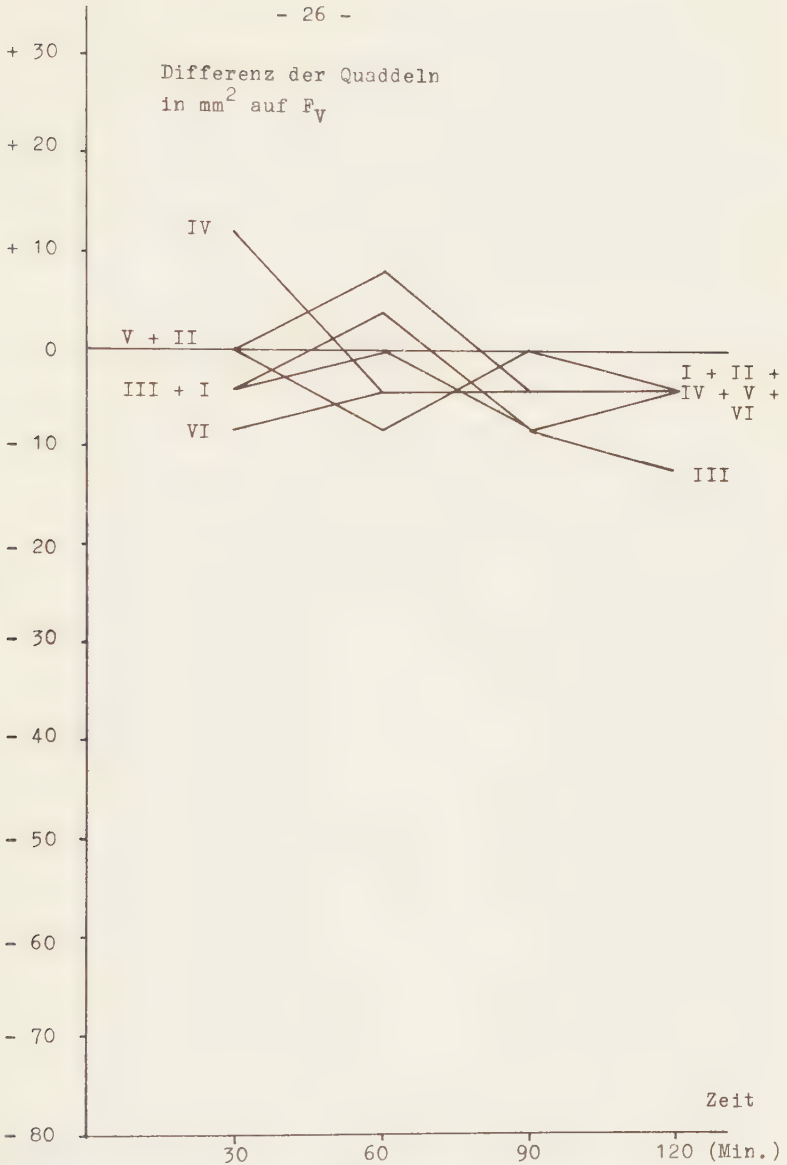


Abbildung 6: Gleichzeitig mit dem in Abbildung 5 dargestellten Versuch wurden bei derselben Ratte zur Kontrolle reine Farbstoff-Quaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_V).

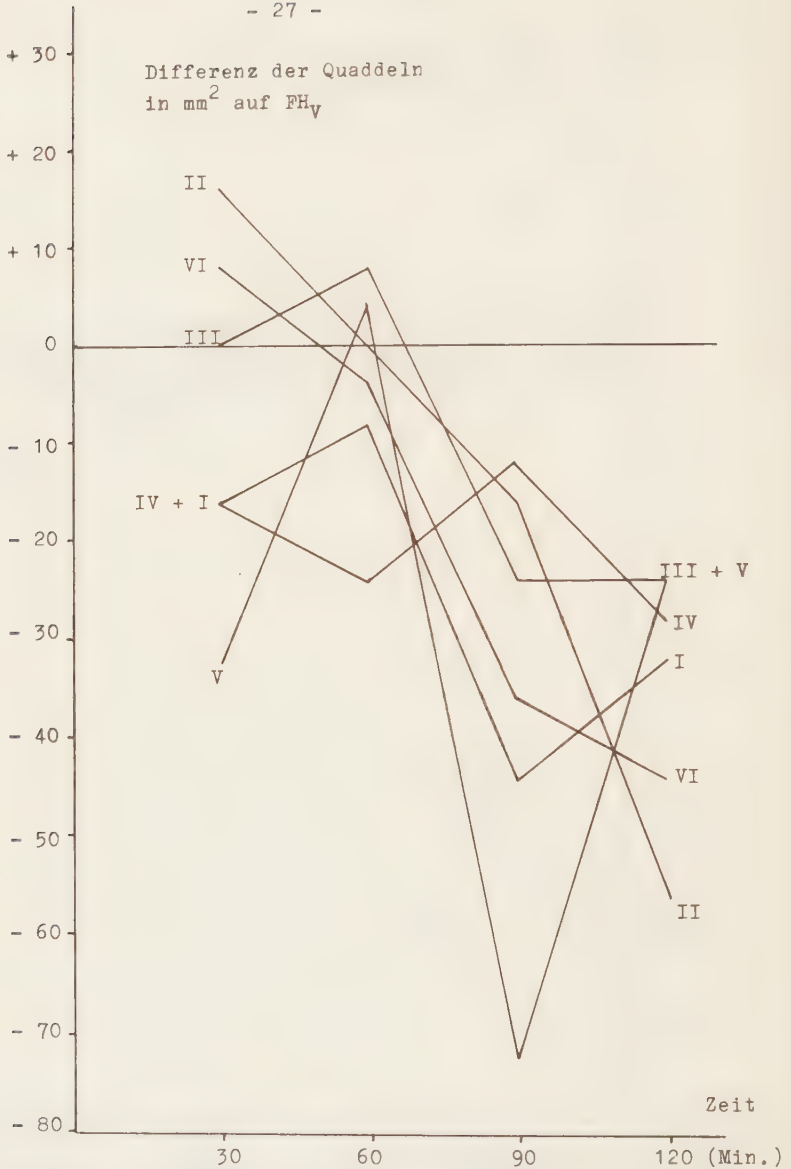


Abbildung 7: Es wurden 0,3 mg Novocain subcutan injiziert; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,295 kg 1,01 mg Novocain pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V).

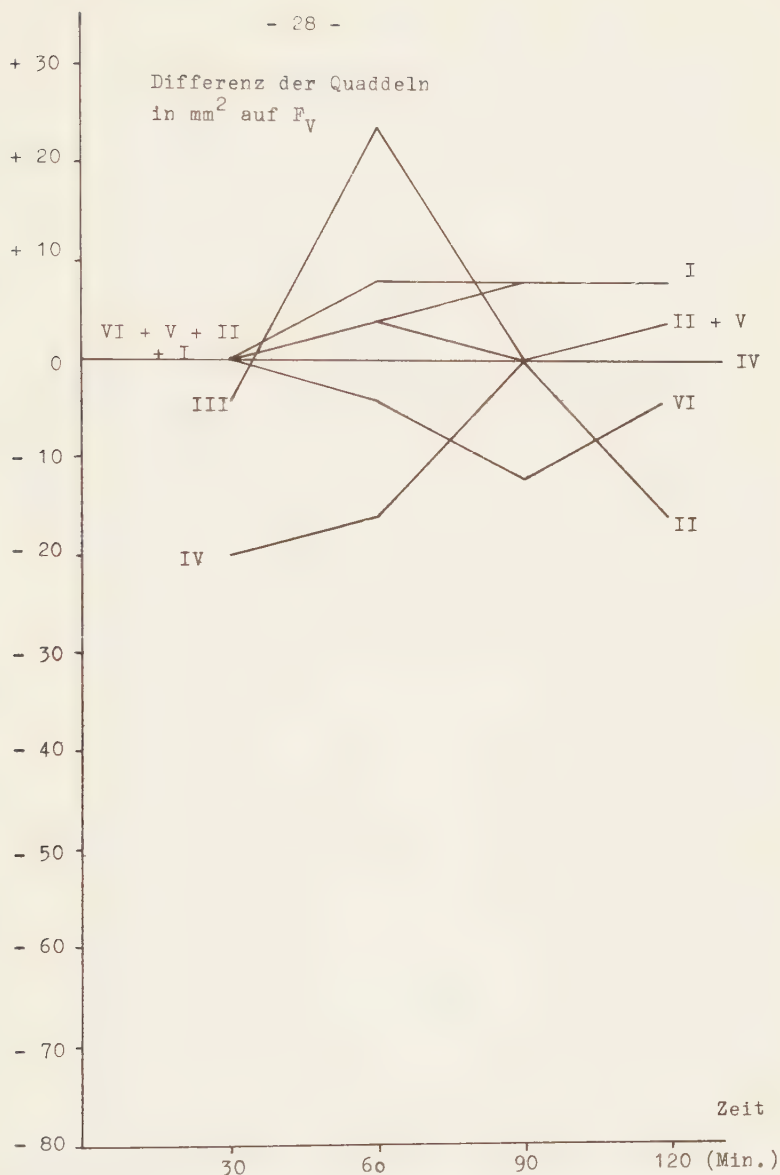


Abbildung 8: Gleichzeitig mit dem in Abbildung 7 dargestellten Versuch wurden bei derselben Ratte zur Kontrolle reine Farbstoff-Quaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_V).

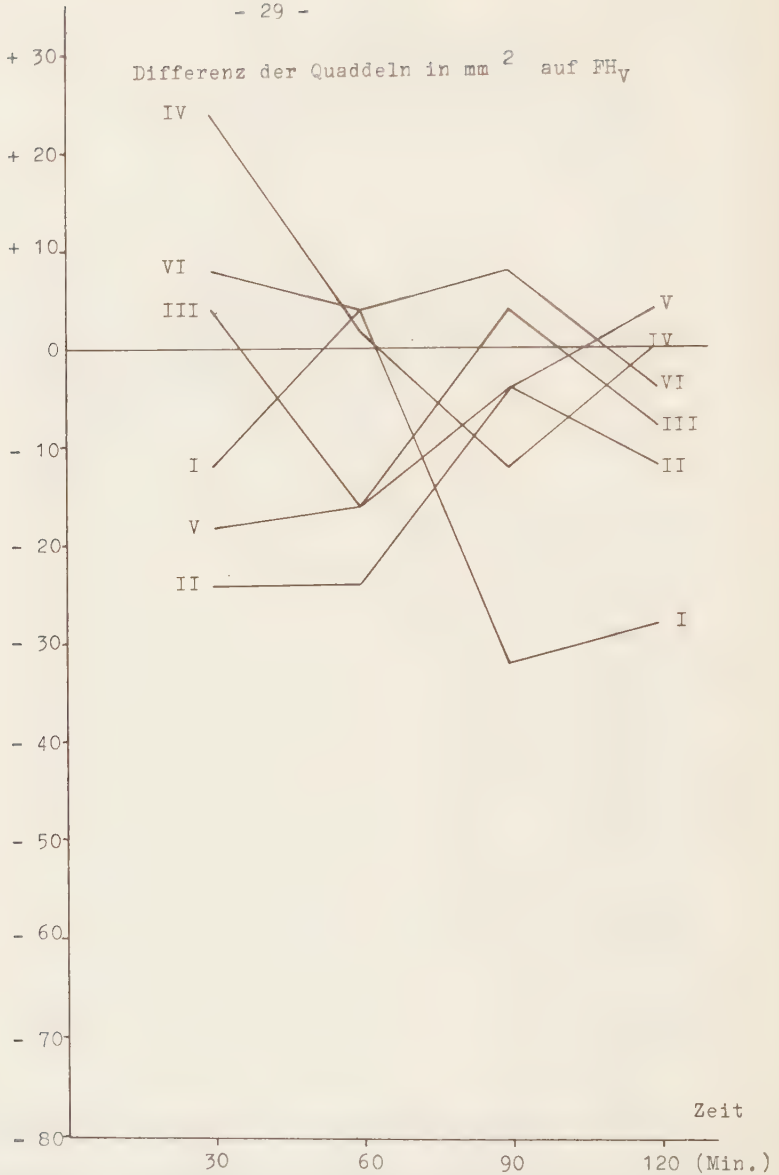


Abbildung 9: Es wurden 0,15 mg Novocain subcutan injiziert, das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,319 kg 0,47 mg Novocain pro kg Tiergewicht. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Vorquaddel (FH_V).

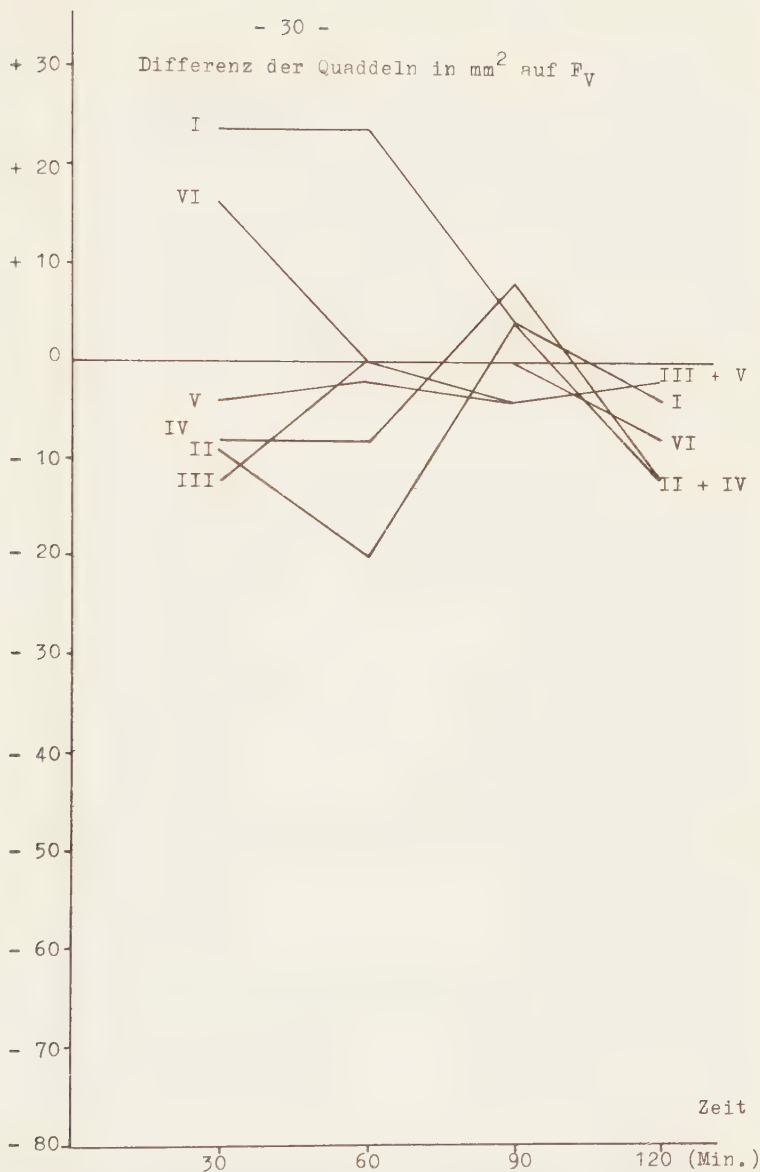


Abbildung 10: Gleichzeitig mit dem in Abbildung 9 dargestellten Versuch wurden bei derselben Ratte zur Kontrolle reine Farbstoff-Quaddeln gesetzt. Die Ergebnisse beziehen sich auf die Ausbreitung der Farbstoff-Vorquaddel (F_V).

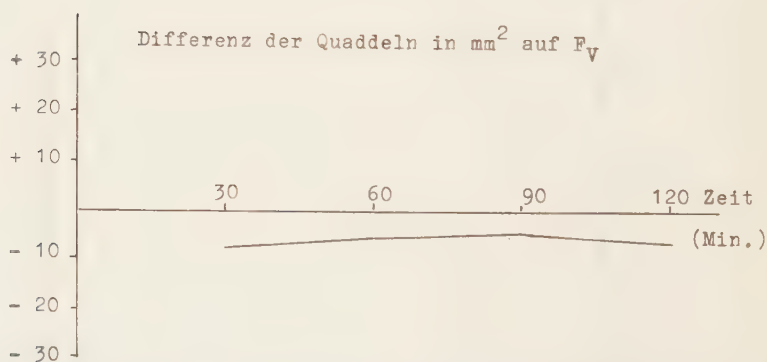
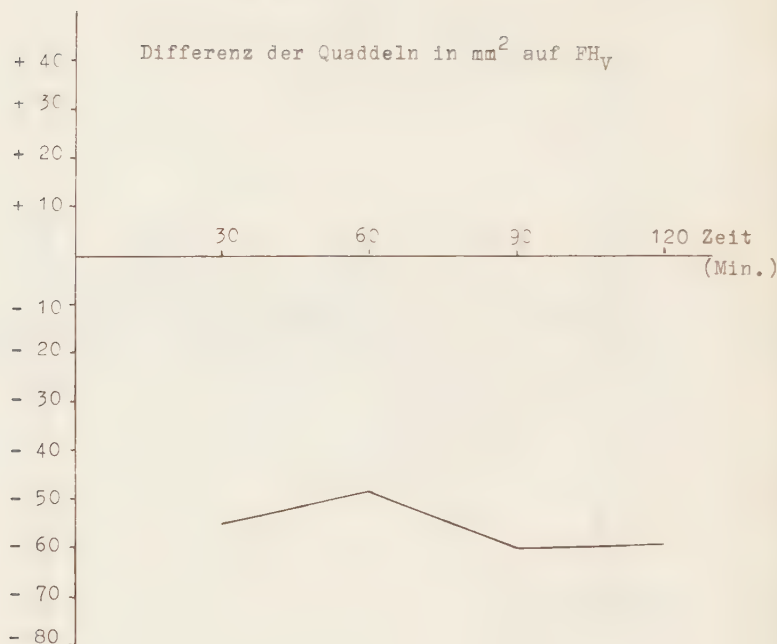


Abbildung 11: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,1 ml eines Huminsäuregemisches 1:10 intraperitoneal (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

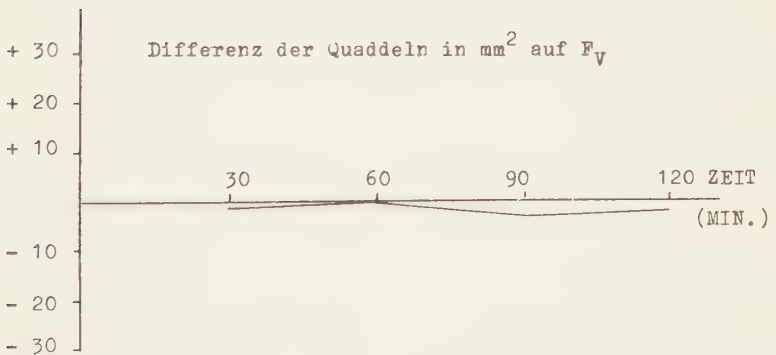
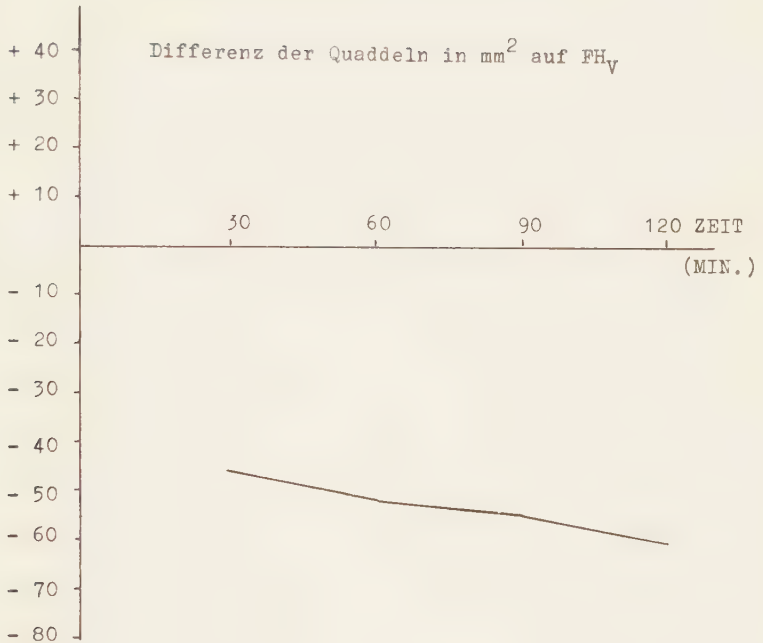


Abbildung 12: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,6 ml einer 1,0 %igen Novocain-Lösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

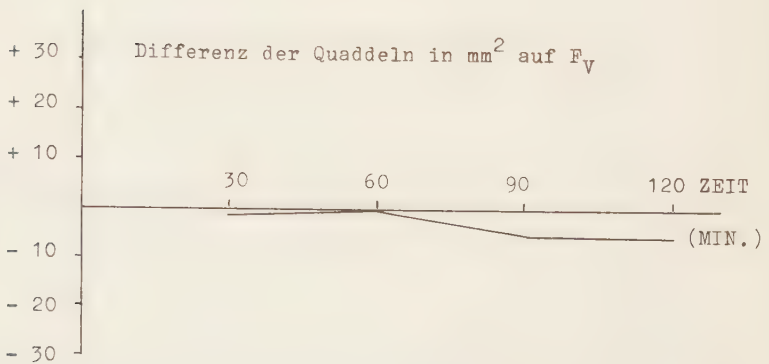
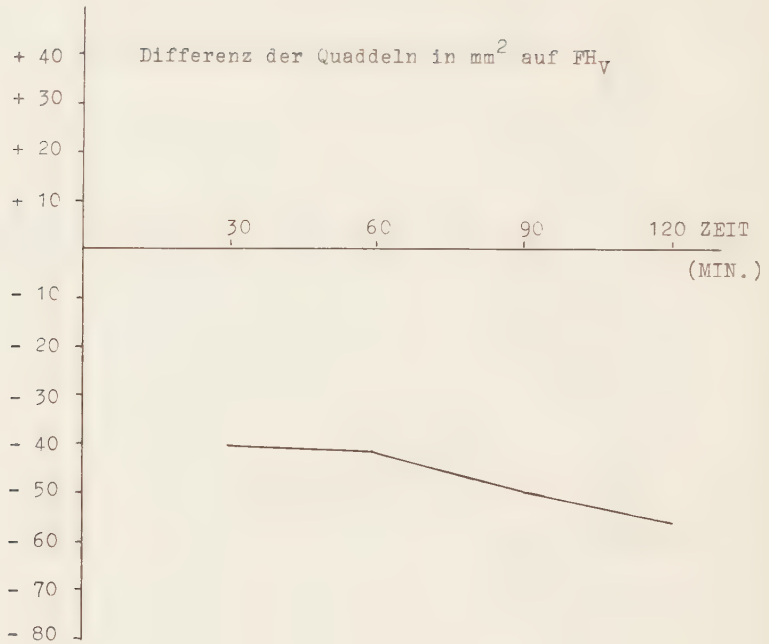


Abbildung 13: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,6 ml einer 0,1 %igen Novocain-Lösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

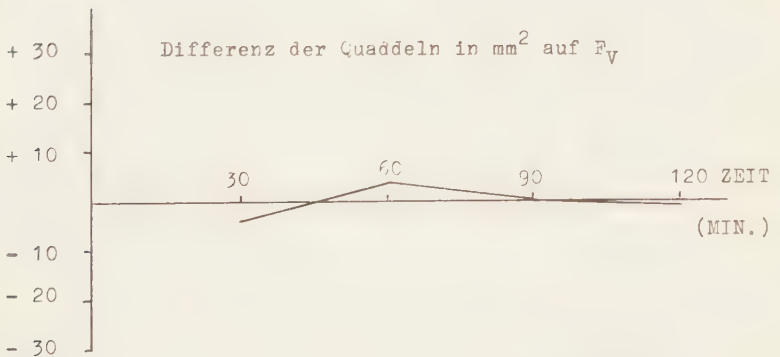
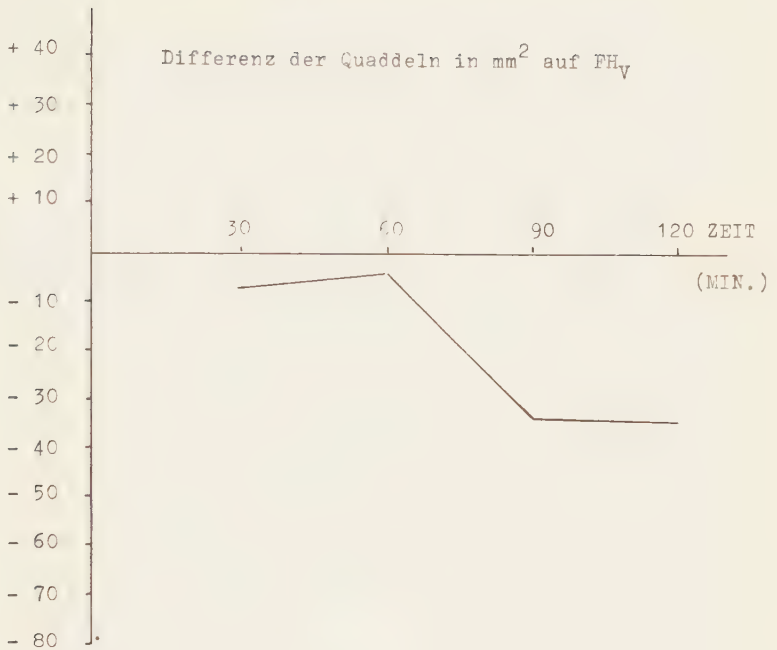


Abbildung 14: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,6 ml einer 0,05 %igen Novocain-Lösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

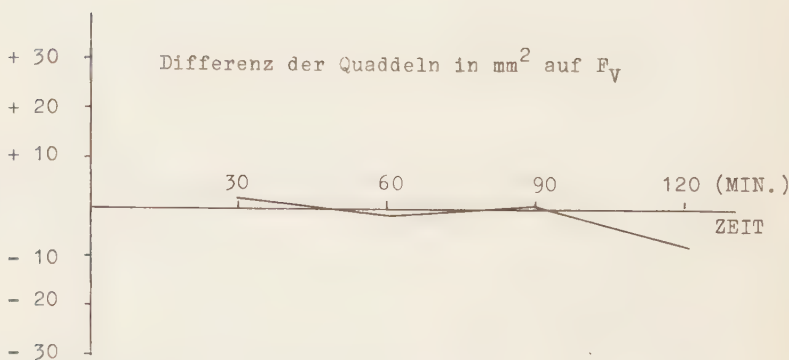
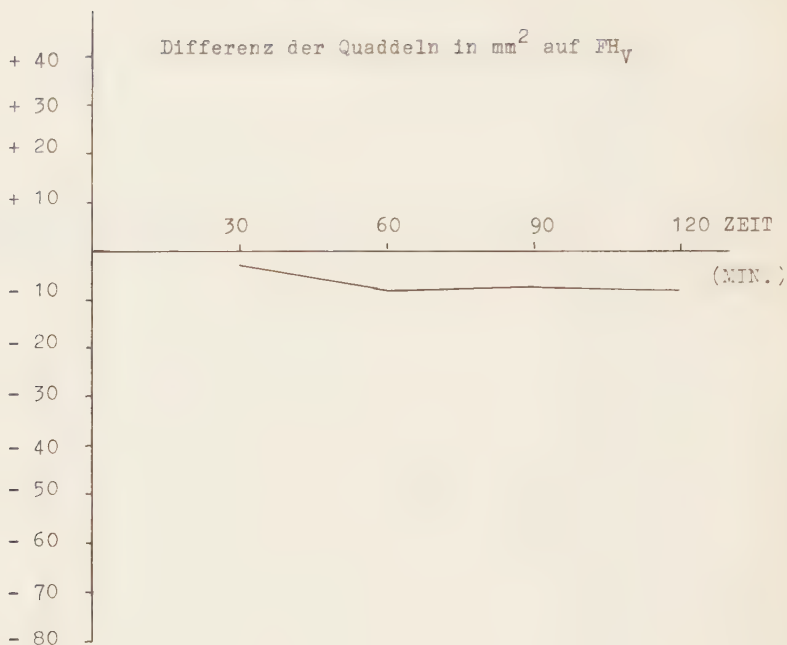


Abbildung 15: Darstellung der MITTELWERTE bei Applikation von 0,6 ml einer 0,025 %igen Novocain-Lösung (oben) und der gleichzeitig gesetzten reinen Farbstoff-Quaddeln (unten).

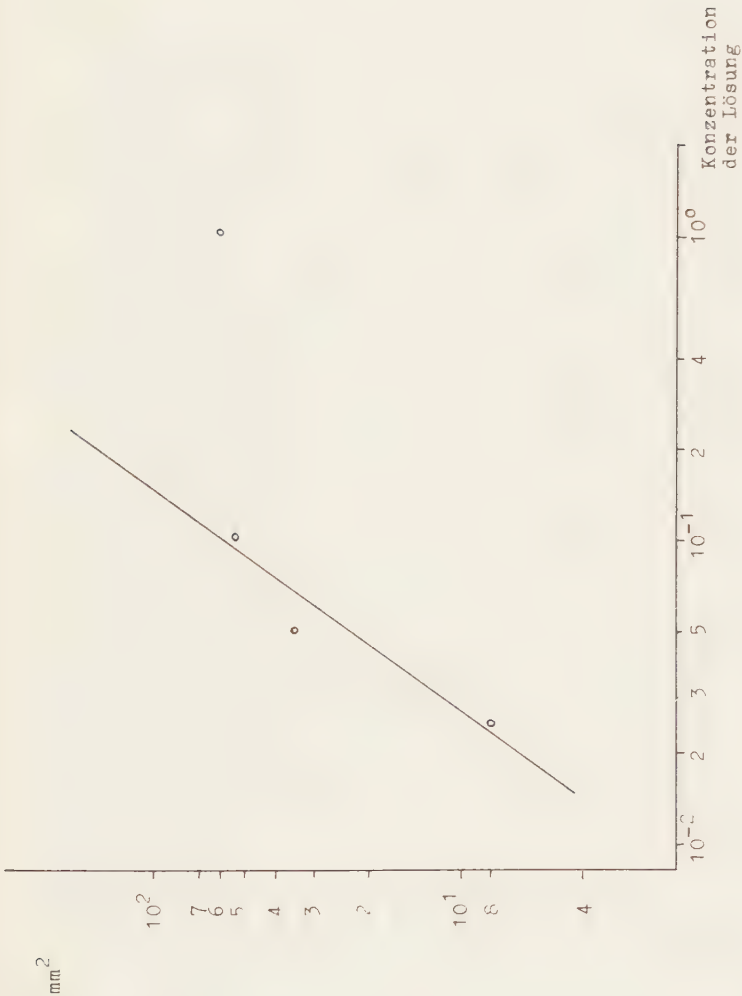


Abbildung 16: Logarithmische Darstellung der Dosisabhängigkeit der Hyaluronidase-Hemmung.
 Ordinate: Ausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddeln in mm² (8,35,55,61 mm²).
 Abszisse: Konzentration der applizierten Novocain-Lösungen 0,025 %ig, 0,05 %ig, 0,1 %ig, 1,0 %ig

Diskussion

Die Versuchsergebnisse zeigen, daß bei subcutaner Injektion von 0,6 ml einer 1 %igen Novocain-Lösung (6 mg Novocain; das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,190 kg 31,6 mg Novocain pro kg Tiergewicht) eine deutliche Hemmung der Hyaluronidaseaktivität eintritt, die 30 Minuten nach Applikation bereits sichtbar ist und gegen Ende der Versuchszeit nach 120 Minuten nach Applikation noch leicht zunimmt. Die Streuung der Werte ist dabei relativ gering. Der Vergleich mit der Farbstoffausbreitung der Farbstoff-Quaddel ohne Hyaluronidasezusatz ergab, daß hier eine Spreading-Hemmung nicht festgestellt werden konnte. Der beschriebene Effekt ist demnach eindeutig auf die Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität zu beziehen. Bei absteigenden Novocain-Dosen zeigt sich bereits bei der subcutanen Injektion von 0,6 ml einer 0,1 %igen Lösung (0,6 mg Novocain, das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,215 kg 2,79 mg Novocain pro kg Tiergewicht) eine wesentlich größere Streuung im ersten Teil der Versuchszeit (30, 60 Minuten post application), während 90 und 120 Minuten p.a. die Streuung bei sicherer Hyaluronidase-Hemmung noch deutlich ist. Insgesamt ist unter dieser Dosierung eine Hyaluronidase-Hemmung noch nachzuweisen. Bei der Dosierung einer 0,05 %igen Lösung (0,3 mg Novocain, das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,295 kg 1,01 mg Novocain pro kg Tiergewicht) wird das Ausmaß der Hyaluronidase-Hemmung deutlich geringer und ist auch im Mittel nur noch bei 90 und 120 Minuten p.a. nachweisbar. Aber auch bei diesen Versuchszeiten ergaben sich schon erhebliche Streuungen zwischen den Versuchstieren. Bei weiterer Dosisreduzierung auf eine 0,025 %ige Lösung (0,15 mg Novocain, das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,319 kg 0,47 mg Novocain pro kg Tiergewicht) ist dann eine Hyaluronidase-Hemmung innerhalb des Versuchszeitraumes nicht mehr vorhanden. Die maximale Verringerung der Farbstoffausbreitung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel betrug bei 0,15 mg Novocain (0,6 ml einer 0,025 %igen Lösung) 8 mm², bei 0,3 mg Novocain

35 mm², bei 0,6 mg Novocain 55 mm², bei 6 mg Novocain 61 mm². Es ist also eine deutliche Dosisabhängigkeit der Hyaluronidase-Hemmung feststellbar. Diese ist in Abbildung 16 graphisch dargestellt.

Wie oben beschrieben (21, 54), bewirkt Novocain subcutan appliziert eine periphere Sympathicus-Blockade. ARNOLD (5) gibt in ihrer Arbeit Anhaltspunkte dafür, daß auch eine periphere Sympathicus-Blockade eine Hyaluronidase-Hemmung verursacht. Möglicherweise könnte also die in dieser Arbeit beschriebene Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität durch subcutane Novocaininjektionen auf eine periphere Sympathicus-Blockade zurückzuführen sein.

Im Vergleich dazu sei das Ergebnis von ERHARD (53) angeführt, wonach nach der Gabe von 0,1 ml einer 2 %igen Lösung (2 mg Novocain) eine deutliche Hemmung der Farbstoff-Hyaluronidase-Quaddel auftrat. Der Maximalwert der Hemmung lag im untersuchten Zeitraum von 180 Minuten bei 35 mm². Diese Versuche wurden jedoch mit intravenöser Applikation durchgeführt. Vergleichsweise wurde noch ein Versuch mit einer Huminsäure-Applikation intra-peritoneal durchgeführt. Dieser Versuch wurde vorgenommen, da von anderer Seite die Beeinflussung der durch Huminsäuren erzielten Hyaluronidase-Hemmung durch Novocain untersucht werden sollte. Die Hyaluronidase-Hemmung durch Moorbäder bzw. durch aus Moor extrahierten Huminsäuren ist bekannt (4). Die von uns verwendete Huminsäure-Präparation war von JOACHIMOVITS aus einem südbrasilianischen Moorvorkommen hergestellt worden. Der Versuch diente also dem Nachweis der hyaluronidasehemmenden Wirksamkeit der aus dem genannten Moorvorkommen extrahierten Huminsäuren. Es zeigte sich eine deutliche Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität bei Applikation von 0,1 ml eines 1 : 10 verdünnten Huminsäuregemisches (0,001 mg Huminsäuren) das sind bei einem mittleren Tiergewicht von 0,211 kg 0,0047 mg Huminsäuren pro kg Tiergewicht). Der Maximalwert betrug 59 mm². Die Streuung war entsprechend der hohen Dosierung gering.

Zusammenfassung

In der hier vorliegenden Arbeit wurde gezeigt, daß bei subcutaner Novocain-Applikation eine deutliche dosisabhängige Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität festzustellen ist. Eine vergleichsweise durchgeführte Versuchsreihe mit einem intraperitoneal applizierten Huminsäuregemisch aus einem südbrazilianischen Moorkommen zeigte ebenfalls eine deutliche Hyaluronidasehemmung. Eine Hemmung der Hyaluronidase-Aktivität durch aus Moor extrahierten Huminsäuren ist jedoch bereits bekannt. Die hyaluronidasehemmende Wirkung einer subcutanen Novocain-Injektion könnte möglicherweise durch eine periphere Sympathicus-Blockade gedeutet werden. Genauere Untersuchungen über dieses Problem liegen noch nicht vor.

Literaturverzeichnis

- 1) Mathies, H. und G.v.Werther: Ztschr. angew. Bäder-Klimahk. 5: 503-515 (1958)
- 2) Mathies, H.: Pharmazie 12, 1 (1957)
- 3) Mathies, H.: Med. Klinik 52, 1676 (1957)
(dort weitere Literatur)
- 4) Mathies, H.: Hyaluronidasehemmung durch Moor, Med. Monatsschrift 10, 685-688
(Okt. 1958)
- 5) Arnold, J.: Diss. München 1965
- 6) Mathies, H.: Fortschr. d. Med. 74, 35 (1956)
(dort weitere Literatur)
- 7) Domenjoz, R.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 255, 14 (1955)
- 8) Mathies, H.: Sonderdruck aus Ztschr. f. Rheumaforsch. 18, Heft 7/8, 308-315 (1959)
- 9) Mathies, H.: Med. Mschr. 12, 685 (1958)
- 10) Domenjoz, R., W. Theobald, E.G. Stenger, K. Mörsdorf: Arch. int. Pharmacodyn. Ther. 103, 341 (1953)
- 11) Haas, H.: Arch. exp. Path. Pharmacol. 232, 549 (1958)
- 12) Sayers, G. und M. Sayers: Endocrinology 40, 256 (1947)
- 13) Sayers, G. und M. Sayers: Ann. N.Y. Acad. Sci. 50, 522 (1949)
- 14) Mathies, H.: Arch. internat. Pharmacodyn. Ther. (im Druck)
- 15) Mathies, H. und Naunyn-Schmiedebergs: Arch. exper. Path. Pharmacol. (eingereicht)
- 16) Mathies, H.: Ärztl. Forsch. 12, I/87 (1958)

- 17) Mathies, H.: Die Bedeutung der Katecholamine für die Hyaluronidasehemmung (Klin. Wschr. eingereicht)
- 18) Mathies, H.: Ztschr. f. Rheumaforschg.
17, Heft 9/10, 375 (1958)
- 19) Mathies, H. und G.v.Werther: Ztschr. angew. Bäder-Klimahk. 5: 582-589 (1958)
- 20) Eichholtz, F.: Lehrbuch d. Pharmakologie, Springer-Verlag, Berlin-Göttingen-Heidelberg, 1955
- 21) Möller, K.O.: Pharmakologie als theoretische Grundlage einer rationellen Pharmakotherapie, Schwabe & Co Verlag, Basel / Stuttgart 1966
- 22) Reichel, H.: . zit. F. Egghart: Sonderheft f. Moorthherapie, Paracelsus-Beihefte Wien (1955)
- 23) Mathies, H.: Die Bedeutung des Adrenalins für die Hyaluronidasehemmung, Ärztl. Forschg. (im Druck)
- 24) Mathies, H. und A. Jankowski: Klin. Wschr. 35, 892 (1957)
- 25) Jankowski, A.: Diss. München 1957
- 26) Bauke, A.: Diss. München 1962
- 27) Kiraly, E.: Diss. München 1961
- 28) Reindl, W.: Diss. München 1960
- 29) Schmidt, D.: Diss. München 1959
- 30) Krohn, R.: Diss. München 1963
- 31) Scheufele, R.: Diss. München 1958
- 32) Kaiser, J.: Diss. München 1958
- 33) Mathies, H.: Acta endocrinologica (eingereicht)
- 34) Scheufele, R.: Diss. München 1958

- 35) Mathies, H.: Fund. baln.-bioclin. 1: 433-440 (1960)
- 36) Lingnau, W.: Diss. München 1960
- 37) Vogel, H.: Diss. München 1961
- 38) Mathies, H.: Arch. f. exper. Path. und Pharmacol.
(eingereicht)
- 39) Schmidt, D.: Diss. München in Vorbereitung
- 40) Mathies, H., Glück, A., Poulantzas, J. und Schmidt, D.:
Med. exp. 1, 64 (1959)
- 41) Mathies, H., Oestreich, G. und Schwalbach, K.:
in Vorbereitung
- 42) Haupt, E.: Diss. München 1959
- 43) Mathies, H. und A. Walcher: in Vorbereitung
- 44) Maxein, H.: Diss. München in Vorbereitung
- 45) Mathies, H.: in Vorbereitung
- 46) Arsov, D.: Rheumatizam 2 (1959)
- 47) Schmidt, R.: Therapie und Prophylaxe inn. Krankh.,
Urban & Schwarzenberg, Berlin / Wien
455; (1943)
- 48) Axelrod, J.: Science 126, 400 (1957)
- 49) Cremerius, J.: Klin. Wschr. 36, 7 (1958)
- 50) Turner, C.W. und Lansbury, J.: Amer. J. Med. Sci.
227, 503 (1954)
- 51) Cobb, S., Anderson, F. und Bauer, W.: New Engl. J. Med.
249, 553 (1953)
- 52) Joachimovits, R.: Persönliche Mitteilung vom 17.X.1965
von der Universidade Santa Maria,
Brasilien
- 53) Erhard, W.: Diss. München in Vorbereitung
- 54) Kuschinsky, G. und H. Lüllmann: Kurzes Lehrbuch der
Pharmakologie, Georg Thieme Verlag,
Stuttgart 1966

- 55) Wilhelmi, G.: zit. R. Domenjoz: Arch. exper.
Path. Pharmacol.
- 56) Gibian, H.: Angew. Chemie 63, 105 (1951)
- 57) Madinaveitia, J.: Biochem. J. 33, 347 (1939)
- 58) Osterburg, J.: Diss. München in Vorbereitung

An dieser Stelle darf ich Herrn Privatdozent Dr.H.Mathies für die Überlassung des Themas und die Unterstützung bei der Gestaltung der Arbeit vielmals danken. Für die Anregung zu den Untersuchungen und die Isolierung der Huminsäuren aus den Moorproben eines südbrasilianischen Moorkvorkommens möchte ich Herrn Professor Dr.med.R.Joachimovits (Universidade Santa Maria, Rio Grande do Sul, Südbrasilien) danken.

Herrn Professor Dr. W. Seitz danke ich für die Möglichkeit der Durchführung der Untersuchungen an seinem Institut.

LEBENS LAUF

Als Sohn des technischen Bundesbahn-Amtmannes Hans Stickel und seiner Ehefrau Anneliese, geborene Bleckmann, wurde ich - Hans-Harald Stickel - am 9. Mai 1941 in Weimar geboren. Von 1947 - 1951 besuchte ich die Volksschule und von 1951 - 1960 das Humboldt-Gymnasium in Essen, wo ich am 9. März 1960 die Reifeprüfung bestand.

Von April 1960 bis März 1962 leistete ich meinen Wehrdienst ab. Seit dem Sommersemester 1962 studiere ich an der Universität München, wo ich am 21.7.1964 die ärztliche Vorprüfung bestand. Ich beabsichtige, im Frühjahr 1968 das Staatsexamen abzulegen.

